

AGRÁRIA

Revista Brasileira de Ciências Agrárias

ISSN (on line) 1981-0997

v.7, n.3, p.380-387, jul.-set., 2012

Recife, PE, UFRPE. www.agraria.ufrpe.br

DOI:10.5039/agraria.v7i3a1169

Protocolo 1169 - 21/10/2010 • Aprovado em 18/11/2011

Patrícia A. Monquero¹

Fabírcia C. dos Reis^{1,3}

William Sanches Munhoz¹

Andréia C. da S. Hirata²

Silvana P. Meneghin¹

Solo cultivado com cana-de-açúcar: persistência e impacto de herbicidas na microbiota no solo

RESUMO

Herbicidas são extensamente utilizados no cultivo da cana-de-açúcar porém muitos deles podem interferir na atividade microbiana do solo. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos dos herbicidas diuron+hexazinone (1170 + 330 g i.a ha⁻¹) e clomazone+ametrina (1500 + 1000 g i.a ha⁻¹), em área cultivada com cana-de-açúcar, sobre a atividade e população microbiana de solo. Em intervalos de sete dias após a aplicação até 42 dias, foram coletadas amostras de solo para análises microbiológicas. Verificou-se que as misturas diuron+hexazinone e clomazone + ametrina apresentaram comportamentos diferentes sobre a comunidade de fungos e bactérias. Nos estudos de persistência os herbicidas foram aplicados diretamente no solo, abaixo de uma camada de 10 t ha⁻¹ de palha de cana-de-açúcar e acima desta. A metodologia usada na determinação da persistência foi a de bioensaios, utilizando-se pepino (*Cucumis sativus*) e milheto (*Pennisetum glaucum*) como bioindicadores. Aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos nenhuma das misturas independente do manejo da palha de cana-de-açúcar foi efetiva no controle das plantas indicadoras.

Palavras-chave: biomassa microbiana, clomazone+ametrina, diuron+hexazinone, persistência

Persistence and impact of herbicides on the soil microbiota activity in area of sugarcane

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the persistence and effects of the diuron + hexazinone and clomazone + ametryne herbicides on activity and microbial population in soil cultivated with sugarcane. The herbicides diuron + hexazinone (1170 + 330 g a.i ha⁻¹) and clomazone + ametryne (1500 + 1000 g a.i ha⁻¹) were applied in field in areas cultivated by sugarcane (manual crop). In intervals of 7 days after the application, up to 42 days, soil samples were collected for the microbiologic analysis. It was verified that diuron+hexazinone and clomazone + ametrina had different effect on fungi and bacteria community. In the persistence studies the treatments constituted of applications in the field of diuron + hexazinone (1170 + 330 g a.i ha⁻¹), clomazone + ametryne (1500 + 1000 g a.i ha⁻¹) on the ground without straw cover, on the 10 t ha⁻¹ of sugarcane straw and on the ground and covered with 10 t ha⁻¹ of sugarcane straw. The methodology used in the determination of the persistence was with bioassay, using cucumber (*Cucumis sativus*) and millet (*Pennisetum glaucum*) as bioindicators. At 60 DAT, none of the herbicides, independent of the handling of the sugarcane straw was effective in the control of the bioindicators.

Key words: microbial biomass, clomazone + ametryne, diuron + hexazinone, persistence

1 Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, Rodovia Anhanguera, km 174, CEP 13600-970, Araras-SP, Brasil. Fone: (19) 3542-4007 Ramal 2043.

E-mail: pamonque@cca.ufscar.br;

fabriareis@msn.com;

william_munhoz@yahoo.com.br;

silvana.meneghin@cca.ufscar.br

2 Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Pólo Regional da Alta Sorocabana, Rodovia Raposo Tavares, Km 561, CEP 19015-970, Presidente Prudente-SP, Brasil. Caixa Postal 298.

Fone/Fax: (18) 3222-0732.

E-mail: andreiacs@apta.sp.gov.br

3 Bolsista de Iniciação Científica da FAPESP

INTRODUÇÃO

O destino dos herbicidas no ambiente e suas interações com o solo, são governados por fatores químicos, físicos e biológicos. Desta forma, o conhecimento dos fatores que influenciam a atividade e estabilidade dos herbicidas no solo é fundamental pois é através dele que se pode explicar o sucesso ou o fracasso no controle de plantas daninhas, a tolerância das culturas e sua persistência no ambiente (Lavorenti, 1996).

A biomassa microbiana (BM) é responsável pelo controle de funções essenciais no solo, como decomposição e acúmulo de matéria orgânica ou transformações envolvendo nutrientes minerais ou compostos no solo. Em razão disto, alto conteúdo de BM pode proporcionar, ao solo, maior estocagem de nutrientes, possibilitando-lhe também melhor ciclagem ao longo do tempo (Stenberg, 1999). Devido à taxa de formação e decomposição rápida em torno de um a dois anos (Jenkinson & Ladd, 1981) a BM tem sido proposta como medida mais sensível de aumento ou decréscimo na quantidade total da matéria orgânica do solo (Carter, 1992; Balota et al., 2003).

No sistema em que a palha permanece sobre o solo tem-se observado aumento dos teores de matéria orgânica (Balota et al., 2003) e diminuição nas variações de temperatura e umidade do solo ao longo do dia (Elliott & Coleman, 1988). A maior retenção de compostos orgânicos no solo sob plantio direto tem sido associada ao aumento da agregação das partículas do solo (Beare et al., 1995) as quais protegem fisicamente a matéria orgânica, por formarem barreira que isola os micro-organismos do substrato influenciando, também, na ciclagem da BM.

A população microbiana do solo é um agente ativo na decomposição de resíduos utilizando-os como fonte de energia e nutrientes para a formação e multiplicação celular (Anderson & Domsch, 1978; Jenkinson & Ladd, 1981). Portanto, com a adição de matéria orgânica ao solo (palha) podem ocorrer mudanças na microbiota do solo e, conseqüentemente, no comportamento do herbicida.

Em virtude de sua sensibilidade a herbicidas, algumas plantas têm sido utilizadas como bioindicadores e sua eficácia é comprovada em diversos estudos sobre impactos ambientais em solos de clima tropical, nas culturas de feijão, cana-de-açúcar e eucalipto (Santos et al., 2005; Tuffi Santos et al., 2005; Vivian et al., 2006). Do total de herbicidas consumidos no Brasil aproximadamente 20% são utilizados na cultura da cana-de-açúcar (SINDAG, 2007) e desses se destacam o diuron + hexazinone e clomazone + ametrina que são empregados em maior frequência ou quantidade.

Os herbicidas diuron + hexazinone e a ametrina têm, como local de ação, a membrana do cloroplasto, onde ocorre a fase luminosa da fotossíntese, mais especificamente no transporte de elétrons (Christoffoleti, 1997). Uma planta é susceptível aos herbicidas inibidores da fotossíntese se o herbicida se acoplar ao composto Q_B componente do sistema fotossintético e,

assim, impossibilitar a ocorrência do transporte do elétron até a plastoquinona. Desta forma não existe a produção de ATP, pois o transporte de elétrons é interrompido, tal como a produção de $NADPH_2$.

A absorção de diuron e hexazinone ocorre predominantemente pelas raízes, sendo baixa a absorção pelas folhas. A translocação é pelo xilema. O diuron é fortemente adsorvido pelos colóides de argila ou matéria orgânica, razão por que a dose adequada é bastante dependente das características do solo. Pode ser lixiviado em solos arenosos (Rodrigues & Almeida, 2005). O ingrediente ativo hexazinone possui alta solubilidade (Bouchard et al., 1985).

O herbicida clomazone promove a inibição da síntese de carotenoides, com posterior geração de estresse oxidativo, que destrói as membranas das células levando, assim, as plantas à morte (Kruse, 2001). O caroteno é um pigmento das plantas responsável, dentre outras funções, pela proteção da clorofila da foto-oxidação; portanto, as plantas suscetíveis têm como sintomatologia o albinismo (“branqueamento”) dos tecidos fotossintéticos. É absorvido predominantemente pelo meristema apical das plântulas, pelas raízes e colo das plantas, e é translocado, via xilema, para as folhas (Devine et al., 1993; Rodrigues & Almeida, 2005). Já a ametrina, ingrediente ativo do herbicida clomazone + ametrina, pode ser absorvida tanto pelo sistema radicular como pelas folhas e é facilmente translocada pelo xilema (Rodrigues & Almeida, 2005).

Apesar dos estudos demonstrarem que herbicidas afetam, de maneira negativa, a biomassa microbiana (Kinney et al., 2005; Santos et al., 2005) poucas informações existem a respeito desse assunto em condições de clima e solos tropicais.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar a persistência de diuron + hexazinone e clomazone + ametrina e o impacto desses herbicidas na atividade e comunidade bacteriana e fúngica do solo em área cultivada com cana-de-açúcar.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em Araras, em área geograficamente definida pelas coordenadas 22°18'00" de latitude Sul e 47°23'03" de longitude Oeste de Greenwich. A altitude local é de 611 m, em média e o clima, segundo a classificação de Köppen, é tipo Cwa, ou seja, mesotérmico com verões chuvosos e invernos frios e secos.

O trabalho é resultado de dois experimentos que são detalhados a seguir.

Persistência dos herbicidas clomazone + ametrina e diuron + hexazinone

Análises físico-químicas do solo, a distribuição das chuvas e a temperatura mínima, máxima e a média mensal ocorridas no campus de Araras durante o experimento (julho a novembro de 2010) podem ser observadas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Características físico-químicas do solo utilizado nos estudos

Table 1. Chemical and physical characteristics of soil. Araras, SP, 2010

pH $CaCl_2$	MO $g\ dm^{-3}$	P $mg\ dm^{-3}$	mmolc dm^{-3}					SB	CTC	V	%	
			K	Ca	Mg	Al	Argila				Silte	Areia
6,0	25	7	0,9	43	20	0	63,9	77,9	82	53	31	16

Tabela 2. Dados meteorológicos da região de Araras, SP, durante a condução do experimento***Table 2.** Meteorological data of Araras, during the execution of experiment

Semanas após aplicação dos herbicidas	Temperatura (°C)			Chuva (mm)
	Tmax	Tmin	Tmed	
Julho	25,5	12,1	18,8	71,0
Agosto	26,8	12,5	19,7	98,2
Setembro	29,0	15,2	22,1	128,4
Outubro	29,0	15,8	22,7	120,0
Novembro	27,8	16,8	22,3	115,2

* As informações meteorológicas foram extraídas de um conjunto de dados do acervo de Agrometeorologia do Departamento de Recursos Naturas e Proteção Ambiental do CCA/UFSCar/campus Araras

O experimento foi conduzido em campo sendo avaliados diferentes posicionamentos dos herbicidas clomazone + ametrina (1500 + 1000 g ha⁻¹) e diuron + hexazinone (1170 + 330 g ha⁻¹) associados à palha de cana-de-açúcar: Os tratamentos empregados foram: 1 - aplicação dos herbicidas sobre 10 t ha⁻¹ de palha seca de cana-de-açúcar; 2 - aplicação dos herbicidas no solo e sua cobertura com palha seca de cana-de-açúcar (10 t ha⁻¹); 3- aplicação dos herbicidas no solo sem palha e 4 - testemunha sem palha e sem aplicação de herbicida.

Os herbicidas foram aplicados com pulverizador costal pressurizado com CO₂, provido de barra de pulverização contendo dois bicos tipo leque Teejet 110.02 e volume de aplicação de 200 L ha⁻¹. A umidade relativa do ar, medida no início da aplicação, a temperatura do ar e a velocidade do vento, foram 72%, 24,8°C e 4,0 km h⁻¹, respectivamente. O delineamento utilizado foi o de blocos ao acaso, no esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. As parcelas (5 x 2 m) foram constituídas dos manejos de palha sendo individualizadas com a construção de aceiros mantidos livres das plantas daninhas evitando, assim, uma provável contaminação entre as parcelas, pela água das chuvas. As subparcelas foram constituídas pelos tratamentos com herbicidas.

Após a aplicação dos herbicidas foram retiradas amostras de solo, por meio de sonda, até a profundidade de 10 cm, para determinação da persistência. Em cada parcela foram realizadas quatro amostragens perfazendo, então, quatro amostras compostas provenientes de cada repetição. Dessa forma foram retiradas amostras de solo para determinação da persistência, nas seguintes épocas: 0, 7, 15, 30, 45 e 60 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA). Os solos coletados foram transferidos para vasos com capacidade de 0,5 L para a semeadura de *Cucumis sativus* e *Pennisetum glaucum*, plantas sensíveis aos herbicidas diuron + hexazinone e clomazone + ametrina, respectivamente. Os vasos foram colocados em fitotron ajustado para 25°C, 70-80% de umidade relativa e fotoperíodo com intensidade luminosa de 35.400 lúmen m⁻², por 16 horas. Decorridos 7 e 14 dias de emergência as plantas foram avaliadas visualmente, por meio de uma escala percentual de notas, em que 0 (zero) corresponde a nenhuma

injúria na planta e 100 (cem) à morte das plantas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas por meio do teste de Tukey com nível de significância de 5%, utilizando-se o software Assisat (Silva & Azevedo, 2009).

Determinação de variáveis microbiológicas do solo

O experimento foi conduzido em campo em Latossolo Vermelho Distroférico (Embrapa, 1999). Foram realizadas análises das características físico-químicas do solo pelo Laboratório de Recursos Naturais e Proteção Ambiental/CCA-UFSCar, cujo resultado se encontra na Tabela 3.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em fatorial 2 x 6, sendo duas misturas de herbicida (diuron + hexazinone e clomazone + ametrina) e sete épocas de coleta (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação e 0 - antes da aplicação dos herbicidas) e quatro repetições. Os herbicidas foram aplicados na entrelinha da cana-de-açúcar utilizando-se o equipamento costal pressurizado (CO₂), munido de barra com três bicos Teejet DG (*Drift Guardian*) 110.02 VS, espaçados 0,50 m, com volume de calda de 200 L ha⁻¹.

As coletas dos solos foram realizadas nas estações inverno e primavera, durante os períodos de junho a novembro de 2010. Cada amostra foi composta de 4 subamostras simples, retirada a uma profundidade de 0-10 cm. As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular do CCA/UFSCar, onde foram peneiradas, homogeneizadas e processadas imediatamente. Determinaram-se o carbono da biomassa microbiana, a produção de CO₂ e a determinação da população fúngica e bacteriana.

A quantificação de bactérias e fungos presentes nos solos foi determinada por meio de unidades formadoras de colônias (UFC) através do método de inoculação em meios de cultura específicos (Agar Nutriente e Martin) respectivamente, com três repetições por diluição. Amostras de 10g de solo foram transferidas para frascos de Erlenmeyers contendo 90 mL de solução salina e agitados durante 15 minutos. A partir dessas suspensões foram realizadas diluições seriadas semeando-se alíquotas de 0,1 mL, em triplicata, nos meios de cultura. As placas foram incubadas a 28 °C para o desenvolvimento de colônias de fungos e a 35 °C para as bactérias. As avaliações foram realizadas após 24 horas para bactérias totais e 48 horas para fungos. Após esses períodos as colônias de fungos e bactérias que cresceram nas placas, foram contadas e o número final expresso em Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por grama de solo de seco.

A atividade microbiana foi estimada pela quantidade de CO₂ desprendido aos 7, 14 e 21 dias das amostras de solo não fumigado em sistema 'estático' (Grisi, 1995). Amostras de 200g de solo foram colocadas no interior de um jarro de Maison (respirômetro) juntamente com outro frasco contendo

Tabela 3. Características físico-químicas do solo utilizado nos estudos**Table 3.** Chemical and physical characteristics of soil. Araras, SP, 2010

pH CaCl ₂	MO g dm ⁻³	P mg dm ⁻³	K Ca Mg Al				SB	CTC	V	Argila	Silte	Areia
			mmol _c dm ⁻³									
5,7	22	16	2,8	37	14		53,8	75,8	71	56	20	24

10 mL de KOH 0,5N para captura de CO₂ desprendido do solo. Tampados, os frascos foram incubados no escuro, na temperatura de 25 °C ± 2. Jarros contendo apenas 10 mL de KOH 0,5N também foram incubados (branco). Após 7, 14 e 21 dias de incubação a solução de KOH, que contém CO₂ absorvido, foi titulada com uma solução padronizada de HCl 0,1N, utilizando-se de 3 gotas de fenolftaleína como indicador para o KOH não reagido e 2 gotas de metilorange, como indicador para o carbonato formado pela reação entre o KOH e o CO₂ evoluído. O carbono da biomassa microbiana foi determinado pelo método descrito por Vance et al. (1987) utilizando clorofórmio para fumigação.

Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão. Os modelos foram escolhidos considerando-se a significância dos coeficientes de regressão e se utilizando o teste t a 5% de probabilidade (Zar, 1999). Realizamos as análises no aplicativo Sigmaplot 11 (Systat Software Inc.).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Persistência dos herbicidas clomazone+ametrina e diuron + hexazinone

Na avaliação da persistência a 0 DAA observou-se que os herbicidas foram efetivos apenas quando aplicados sob a palha ou diretamente no solo. As aplicações sobre a palha não causaram injúria nas plantas indicadoras mostrando que o herbicida não atingiu o solo. A umidade inicial insuficiente para o transporte dos produtos até o solo pode ser uma possível causa, de vez que a primeira chuva ocorreu oito dias após a aplicação (Tabelas 4 e 5) o que é uma situação comum na região.

A mistura clomazone + ametrina aplicada diretamente no solo foi eficiente no controle das plantas indicadoras até 45 DAA (controle de 85%); entretanto, após este período o efeito residual foi menor sendo que aos 60 DAA o controle foi de 31,25 %, considerado, portanto, insatisfatório (Tabelas 4 e

5). O tratamento com deposição de palha após a aplicação do herbicida evidenciou redução da persistência em comparação ao tratamento sem palha, em todos os períodos avaliados, igualando-se apenas aos 60 dias evidenciando possível atividade de micro-organismos na degradação do produto.

Embora apresente alta solubilidade (1100 mg L⁻¹ a 25°C) a aplicação de clomazone + ametrina sobre a palha de cana-de-açúcar afetou de maneira significativa, a persistência do produto. Em seus estudos referentes à dinâmica do herbicida clomazone aplicado sobre a cobertura de trigo, Mills et al. (1989) evidenciaram que mais de 40% do herbicida não atingiram a superfície do solo sendo interceptados pela palha e/ou volatilizado. Observou-se, ainda, naquele estudo, que a dissipação de clomazone foi mais rápida em sistema de plantio direto do que em plantio convencional.

Os resíduos vegetais possuem grande capacidade de sorção, às vezes superior à do solo; por conseguinte, o produto retido fica mais exposto às perdas por fotodecomposição, volatilização e/ou hidrólise provocada pela água da chuva (Dao 1995; Reddy et al., 1995). De acordo com a precipitação pluvial há, durante o período avaliado (532 mm), grande probabilidade do herbicida ter sido lixiviado em profundidades maiores que os 10 cm amostrados, o que pode ter influenciado os mecanismos de volatilização e a fotodecomposição. O clomazone, por exemplo, poderia, sendo relativamente volátil (Rodrigues & Almeida, 2005) ter sido mais volatilizado quando aplicado sobre cobertura morta do que em solo nu (Thelan et al., 1986).

O herbicida diuron + hexazinone aplicado no solo sem a presença de palha, apresentou alta persistência até 30 DAA (Tabelas 4 e 5). A presença da palha exerceu um efeito negativo inicial na eficácia deste produto apresentando baixa fitotoxicidade nas plantas indicadoras nas amostras coletadas aos 7 DAA. De modo geral, o diuron + hexazinone foi menos persistente que o clomazone + ametrina, à exceção da aplicação sobre a palha, nas avaliações aos 7 e 30 dias após a aplicação.

Tabela 4. Porcentagem de fitotoxicidade dos herbicidas diuron + hexazinone (D+H) e clomazone + ametrina (C+A) aos 7 dias após a emergência das plantas indicadoras

Table 4. Percentage phytotoxicity of diuron + hexazinone and clomazone + ametryn herbicides at 7 days after emergence of bioindicators

Herbicidas e manejos de palha	Persistência (dias)									
	0		7		30		45		60	
	D+H	C+A	D+H	C+A	D+H	C+A	D+H	C+A	D+H	C+A
Aplicação acima da palha	0,00 bA	0,00 bA	5,00 bB	12,50 bA	5,00 bB	25,00 cA	5,00 bB	57,50 bA	0,00 cB	32,50 bA
Aplicação no solo e cobertura com palha	10,00 aB	82,50 aA	20,00 aB	70,00 aA	10,00 bB	85,00 aA	5,00 bB	65,00 bA	5,00 bB	42,50 aA
Aplicação sobre o solo sem palha	15,00 aB	80,00 aA	15,00 aB	72,50 aA	20,00 aB	75,00 bA	30,00 aB	75,00 aA	16,25 aB	42,50 aA
CV %	16,87		12,95		7,03		10,82		10,60	

Médias com letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas na linha, dentro de cada intervalo de avaliação, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 5. Porcentagem de fitotoxicidade dos herbicidas diuron+hexazinone (D+H) e clomazone + ametrina (C+A) aos 14 dias após a emergência das plantas indicadoras

Table 5. Percentage phytotoxicity of diuron + hexazinone and clomazone + ametryn herbicides at 14 days after emergence of bioindicators

Herbicidas e manejos de palha	Persistência (dias)									
	0		7		30		45		60	
	D+H	C+A	D+H	C+A	D+H	C+A	D+H	C+A	D+H	C+A
Aplicação acima da palha	0,00 bA	0,00 bA	46,25 cA	36,25 cAB	67,50 bA	47,50 cB	22,50 cA	25,00 cA	10,00 bA	11,25 bA
Aplicação no solo e cobertura com palha	90,00 aA	93,75 aA	72,50 bA	71,25 bA	65,00 bB	73,75 bA	32,50 bB	60,00 bA	11,25 abB	30,00 aA
Aplicação sobre o solo sem palha	90,00 aA	90,00 aA	91,25 aA	87,50 aA	93,75 aA	80,00 aB	60,00 aB	85,00 aA	16,25 aB	31,25 aA
CV %	9,27		6,23		2,74		9,61		14,01	

Médias com letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas na linha, dentro de cada intervalo de avaliação, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Em trabalho anterior Monquero et al. (2008) observaram que, com 15 t ha⁻¹ de palha, houve significativa redução na eficácia de diuron + hexazinone sendo que já aos 10 DAA o controle das plantas indicadoras foi de 55 e 70% em solo argiloso e de textura média, respectivamente. A capacidade de um herbicida residual atingir o solo coberto com palha não depende apenas da sua solubilidade em água, fotodecomposição e volatilização. A quantidade, a composição química e a origem da cobertura morta, assim como a quantidade e o período da primeira chuva ou irrigação ocorrida após a aplicação, além das condições climáticas que predominaram durante e após a aplicação, também podem interferir na transposição da palha pelos herbicidas (Rodrigues, 1993).

Velini et al. (2004) verificaram que a mistura diuron + hexazinone apresenta elevada interceptação pela palha de cana-de-açúcar no momento da aplicação, atingindo valores acima de 95% para ambos os ingredientes ativos em quantidades de palha superiores a 7,5 t ha⁻¹. Cavenaghi et al. (2002) avaliaram a dinâmica de diuron em palha de cana-de-açúcar e observaram uma redução significativa na transposição do herbicida, em quantidades de palha superiores a 2,0 t ha⁻¹. Além disto, a partir de quantidades de palha superiores a 15 t ha⁻¹ a transposição foi nula. Alguns herbicidas apresentam grande facilidade em serem transportados para o solo quando ocorrem chuvas 24 horas após a aplicação. Negrisoli et al. (2002) verificaram, avaliando a deposição e o transporte do herbicida diuron em palha de cana-de-açúcar, que com a ocorrência de uma chuva após a aplicação houve aumento significativo na transposição do herbicida na palha alcançando 65% para uma chuva de 50 mm.

Aos 60 DAA ambos os herbicidas, independente do manejo da palha de cana-de-açúcar, apresentaram baixa fitotoxicidade. O balanço hídrico da região demonstra que os meses de julho, agosto e novembro foram, de maneira excepcional, bastante úmidos, com chuvas abundantes e temperaturas altas, o que influencia na persistência dos herbicidas. Herbicidas aplicados na superfície do solo, são frequentemente perdidos, sobretudo se ocorrer um período prolongado de seca após a aplicação (Silva et al., 2007). É possível que ocorram perdas em função do processo de fotodegradação, além de outros fatores que podem estar envolvidos, como a volatilização, acentuada pela temperatura elevada na superfície do solo, a degradação química e biológica e a sorção, que devem ser considerados para explicar o desaparecimento dos herbicidas no solo (Silva et al., 2007).

Impacto dos herbicidas na microbiota do solo

Embora tenham padrões similares, o estudo comparativo entre as curvas da comunidade de fungos do solo demonstra uma evolução diferente entre os herbicidas (Figura 1). O herbicida clomazone + ametrina provocou estímulo na população de fungos, até 21 dias após a aplicação (DAA); entretanto, o efeito observado foi transitório. O crescimento foi mais pronunciado quando comparado com diuron + hexazinone até 19 DAA. Em relação ao comportamento do diuron + hexazinone verificou-se um efeito mais lento, além de pico na comunidade de fungos, aos 28 DAA e posterior queda até aos 42 dias, sendo os menores valores encontrados na avaliação aos 0 e 7 DAA (Figura 1).

O aumento inicial das populações dos micro-organismos após a aplicação de herbicidas, é frequente (Kuncb et al., 1985). A microbiota mineraliza temporariamente os herbicidas, utilizando-os como fonte de energia a qual permite o aumento da população; entretanto, de maneira geral esses incrementos iniciais são seguidos de decréscimo (Childs, 2007).

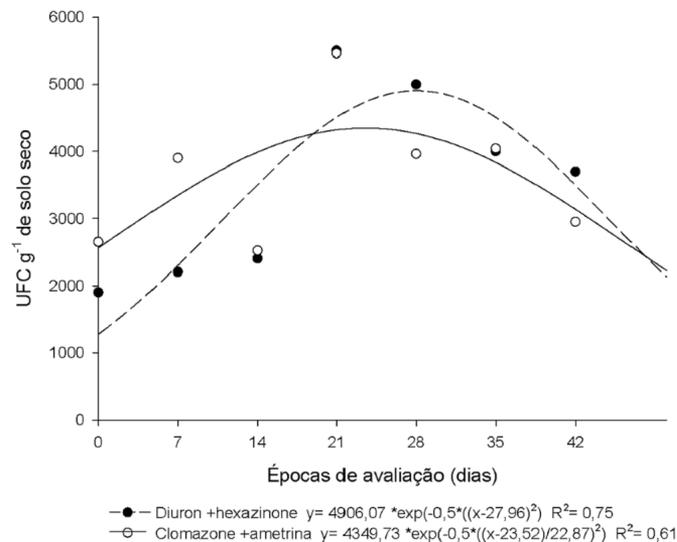


Figura 1. Efeito de clomazone + ametrina e diuron + hexazinone sobre a comunidade de fungos do solo (UFC/g de solo seco)

Figure 1. Evaluation of the effect of clomazone + ametryn and diuron + hexazinone on the community of soil fungi (CFU g/dry soil)

Quanto ao efeito dos herbicidas na comunidade de bactérias (Figura 2) e se comparando as curvas obtidas, observou-se uma diferença marcante entre os herbicidas utilizados sendo que, no caso de diuron + hexazinone, a comunidade de bactérias foi estimulada até os 21 dias após a aplicação dos herbicidas com posterior redução. Este efeito na comunidade de fungos e bactérias devido à aplicação de ametrina e de diuron +

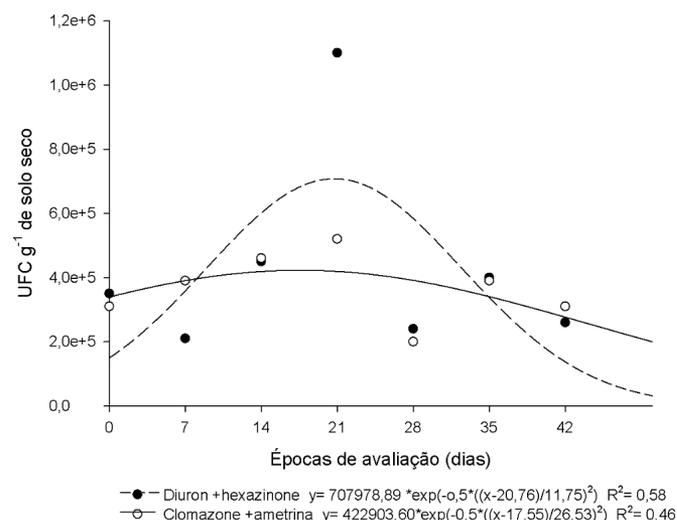


Figura 2. Avaliação do efeito de clomazone + ametrina e diuron + hexazinone sobre a comunidade de bactérias do solo (UFC/g solo seco)

Figure 2. Evaluation of the effect of clomazone + ametryn and diuron + hexazinone on the community of soil bacteria (CFU g/dry soil)

hexazinone, é surpreendente pelo fato desses herbicidas serem inibidores do fotossistema II e de a maioria dos micro-organismos do solo ser heterotrófica ou quimiorganotrófica, ou seja, não apresentam capacidade de fixar CO₂ atmosférico. Todavia, possíveis efeitos desses herbicidas sob células microbianas são desconhecidos (Reis et al., 2008). Alexander (1999) relatou que a resposta dos micro-organismos do solo aos agrotóxicos pode ser dividida em quatro fases: (a) redução da população fúngica e bacteriana; (b) adaptação e aumento na população, principalmente de bactérias; (c) estabelecimento de um equilíbrio e microflora menos diversificada e (d) restabelecimento de um equilíbrio similar ao inicial.

Anderson & Domsch (1978) relataram que compostos quando utilizados normalmente nas doses recomendadas não têm efeitos adversos sobre os micro-organismos do solo. Todavia e de acordo com Paul & Clark (1996) a aplicação de agrotóxicos determina mudanças na microbiota e na fauna do solo. A aplicação de agrotóxicos resulta, possivelmente, na redução da biodiversidade da população. Em solos de clima temperado alguns agrotóxicos reduzem a população bacteriana em favor da fúngica, revertendo após certo tempo, ao normal. No entanto, em inúmeros casos não foram observadas alterações significativas (Langenbach & Paim, 1995).

Roslycky (1982) constatou que em altas doses do herbicida glifosato os fungos apresentaram, de início, um aumento populacional logo após sua aplicação; contudo após 28 dias este aumento não foi significativo mas as bactérias alcançaram a população máxima aos 14 dias após a aplicação do glifosato.

As alterações nos processos microbiológicos causadas pelos agrotóxicos são influenciadas pelas características do produto tal como, também, pelos diferentes tipos de solo e condições climáticas (Somerville & Greaves, 1987).

Em relação à respiração microbiana observou-se que no solo com diuron + hexazinone, a partir dos 8 DAA a respiração foi menor quando comparada ao clomazone + ametrina (Figura 3). Segundo Tironi et al. (2009) a menor produção de CO₂ pode

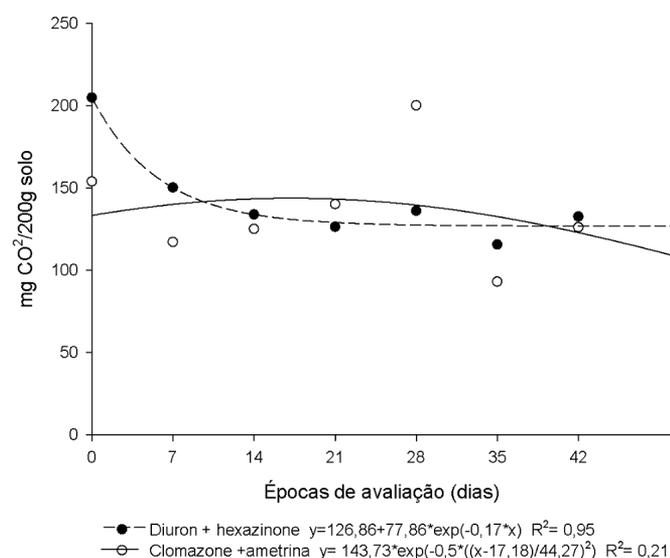


Figura 3. Efeito de clomazone + ametrina e diuron + hexazinone sobre a respiração basal de micro-organismos

Figure 3. Effect of clomazone + ametrina and diuron + hexazinone on the respiration of microorganisms

ocorrer em virtude da redução da população microbiana, em função da toxicidade do composto. Kleinschmitt et al. (2006) não encontraram relação entre o decréscimo da atividade microbiana e a aplicação do herbicida atrazina. Lopes et al. (1986) não constataram influência do herbicida 2,4D na atividade respiratória do solo.

No tratamento com clomazone + ametrina observa-se aumento na atividade respiratória em relação às amostras coletadas aos 0 DAA e entre 8 e 40 DAA, a respiração é maior que nas amostras que receberam diuron + hexazinone (Figura 3). Os resultados obtidos corroboram com Tironi et al., (2009) ao verificarem que os herbicidas ametrina e trifloxysulfuron-sodium provocaram maior produção diária de C-CO₂ do solo, logo após a aplicação, decrescendo ao longo do tempo.

Santos et al. (2005) verificaram maior atividade microbiana nos tratamentos que receberam aplicação de glyphosate, indicando sua utilização como fonte de carbono pelos micro-organismos do solo. Com relação ao carbono da biomassa microbiana, as curvas demonstram comportamentos diferentes entre os produtos utilizados. No tratamento com diuron + hexazinone houve aumento nos valores desta variável até 28 DAA, com posterior redução (Figura 4). Para clomazone + ametrina os valores reduziram ao longo das avaliações (Figura 4). Portanto, pode-se observar uma diferença grande entre a biomassa encontrada no solo tratado com clomazone + ametrina e solo tratado com diuron + hexazinone.

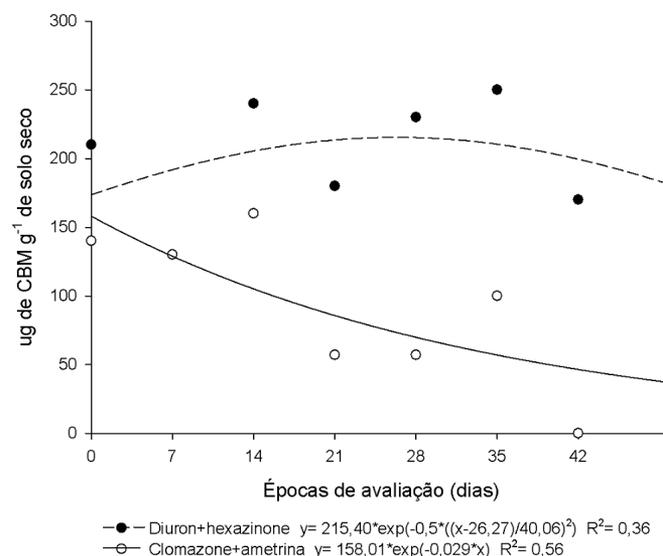


Figura 4. Efeito de clomazone + ametrina e diuron + hexazinone sobre o carbono da biomassa microbiana (ug CBM/g de solo)

Figure 4. Effect of clomazone + ametrina and diuron + hexazinone on microbial biomass carbon (MBC $\mu\text{g/g}$ soil)

A biomassa microbiana e a respirômetria são consideradas parâmetros mais genéricos visto que levam em consideração a atividade de bactérias, actinomicetos, fungos, protozoários e algas (Lin & Brookes, 1999). Uma vez que o herbicida diuron + hexazinone apresentou efeito significativo apenas sobre a comunidade fúngica, conclui-se que os herbicidas estudados tiveram efeito mais pronunciado sobre os demais micro-organismos presentes no solo amostrado.

CONCLUSÕES

Os herbicidas resultaram em comportamentos diferentes sobre microbiota do solo. Nas amostras que receberam o herbicida clomazone+ametrina verificou-se maior aumento da atividade respiratória quando comparadas com as amostras com diuron + hexazinone. No tratamento com diuron+hexazinone houve aumento nos valores de carbono da biomassa microbiana até 28 DAA com posterior redução. Para clomazone+ametrina os valores sofreram redução ao longo das avaliações.

Clomazone + ametrina apresentou maior persistência (45 dias) em relação ao diuron + hexazinone (30 dias) considerando controle acima de 80%. A presença da palha afetou negativamente o desempenho das duas misturas de herbicidas.

LITERATURA CITADA

- Alexander, M. Biodegradation and bioremediation. New York: Academic, 1999. 453 p.
- Anderson, J.P.E.; Domsch, K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, v.10, n. 3, p.212-215, 1978. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0038071778900998>>. 21 Sep. 2010. doi:10.1016/0038-0717(78)90099-8
- Balota, E. L.; Collozi-Filho, A.; Andrade, D.S.; Dick, R. P. Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. *Biology and Fertility Soils*, v. 38, n.1, p. 15-20, 2003. <<http://www.springerlink.com/content/hmvkk0gt8bdbnkhe>>. 17 Sep. 2010. doi:10.1007/s00374-003-0590-9
- Beare, M. H.; Coleman, D.C.; Crossley, J.R.; Hendrix, P.F.; Odum, E.P.A. A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling. *Plant Soil*, v. 170, n.1, p. 5-22, 1995. <<http://www.springerlink.com/content/r16p532p57447p25>>. 22 Sep. 2010. doi:10.1007/BF02183051.
- Bouchard, D. C.; Lavy, T. L.; Lawson, E. R. Mobility and persistence of hexazinone in a forest watershed. *Journal Environmental Quality*, v. 14, n. 2, p. 229-233, 1985. <<https://www.crops.org/publications/jeq/abstracts/14/2/JEQ0140020229?access=0&view=pdf>>. 10 Sep. 2010.
- Carter, M. R. Influence of reduced tillage systems on organic matter, microbial biomass, macro-aggregate distribution and structural stability of surface soil in a humid climate. *Soil and Tillage Research*, v. 23, n. 4, p. 361-372, 1992. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016719879290081L>>. 12 Sep. 2010. doi:10.1016/0167-1987(92)90081-L.
- Cavenaghi, A. L.; Rossi, C.V.S.; Negrisoli, E. Dinâmica de herbicidas em palhada de cana-de-açúcar. In: Congresso Nacional da STAB, 8., 2002, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 2002. v. único, p. 170-174.
- Childs, G. M. F. Efeito de herbicidas na microbiota do solo. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, 2007. 51p. Tese Doutorado.
- Christoffoleti, P.J. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: Simpósio Sobre Herbicidas e Plantas Daninhas, 1, 1997, Dourados. Anais... Dourados: Embrapa, 1997. p. 75-94.
- Dao, T. H. Subsurface mobility of metribuzin as affected by crop residue placement and tillage method. *Journal Environmental Quality*, v. 24, n. 6, p. 1193-1198, 1995. <<https://www.soils.org/publications/jeq/abstracts/24/6/JEQ0240061193>>. 11 Jul. 2010.
- Devine, M. D.; Duke, S. O.; Fedtke, C. Safeners for herbicides. In: Devine, M. D.; Duke, S. O.; Fedtke, C. (Eds.). *Physiology of herbicide action*. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1993. v.1, p. 376-387.
- Elliott, E. T.; Coleman, D. C. Let the soil work for us. *Ecological Bulletins*, v. 39, n.1, p. 23-32, 1988. <<http://www.jstor.org/discover/10.2307/20112982?uid=3737664&uid=2129&uid=2&uid=70&uid=4&sid=21101172703591>>. 11 Jul. 2010.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa. Sistema Brasileiro de Classificação de solos. Rio de Janeiro: Embrapa/CNPQ, 1999. 412 p.
- Grisi, B.M. Biomassa e a atividade de microrganismos do solo: Revisão metodológica. *Revista Nordestina de Biologia*, v.10, n.1, p.1-22, 1995.
- Jenkinson, D. S.; Ladd, J. M. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Paul, E. A.; Ladd, J. N. (Eds.). *Soil biochemistry*. New York: Marcel Dekker, 1981. v. 5, p. 415-471.
- Kinney, C. A.; Mandernack, K. W.; Mosier, A. R. Laboratory investigations into the effects of the pesticides mancozeb, chlorothalonil, and prosulfuron on nitrous oxide and nitric oxide production in fertilized soil. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 37, n.5, p. 837-850, 2005. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071704003724>>. 22 Jul. 2010. doi:10.1016/j.soilbio.2004.07.044.
- Kleinschmitt, A.R.B.; Dick, D.P.; Selbach, P.A.; Dos Santos, M. Dessorção do herbicida atrazina e atividade microbiana em duas classes de solos do Estado do Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, v.36, n.6, p.1794-1798, 2006. <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v36n6/a19v36n6.pdf>>. 18 Out. 2010. doi:10.1590/S0103-84782006000600019.
- Kruse, N.D. Inibidores da síntese de carotenóides. In: Vidal, R.A.; Merotto Jr, A. (Eds.). *Herbicidologia*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. v.1, p.113-122.
- Kunck, F.; Tichy, P.; Vancura, V. 2,4-dichlorophenoxy acetic acid in the soil mineralization and changes in the counts of bacteria decomposers. Versailles: INRA, 1985. 15p. (Les Colloques de l'INRA, n. 31).
- Lavorenti, A. Comportamento de herbicidas no meio ambiente. In: Workshop Sobre Biodegradação, 1., 1996, Campinas. Anais... Jaguariuna: Embrapa, CNPMA, 1996. v. 1, p. 81-115.
- Lin, Q.; Brookes, P. C. Comparison of substrate induced respiration, selective inhibition and biovolume of microbial biomass and its community structure in unamended, ryegrass-amended, fumigated and pesticide-treated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 31, n. 14, p. 1999-2114, 1999. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071799001224>>. 11 Jul. 2010. doi:10.1016/S0038-0717(99)00122-4.

- Lopes, E.S.; Peron, S.C.; Portugal, E.P.; Camargo, O.A.; Freitas, S.S. Atividade respiratória de solo tratado com vinhaça e herbicida. *Bragantia*, v.45, n.1, p. 205-210, 1986. <<http://www.scielo.br/pdf/brag/v45n1/22.pdf>>. 10 Out. 2010. doi:10.1590/S0006-87051986000100022.
- Mills, J. A.; Witt, W. W.; Loux, M. M. Extraction and quantification of clomazone from soil. *Weed Science Society American Abstract*, v. 28, n. 1, p. 82. 1989.
- Monquero, P. A.; Silva, P.V.; Amaral, L.; Binha, D.P. Mobilidade e persistência de herbicidas aplicados em pré-emergência em diferentes tipos de solo. *Planta Daninha*, v. 26, n.1, p. 411-417, 2008. <<http://www.scielo.br/pdf/pd/v26n2/a18v26n2.pdf>>. 12 Set. 2010. doi:10.1590/S0100-83582008000200018.
- Negrisolí, E.; Tofoli, J.R.; Cavenaghi, A.L. Dinâmica de diuron em palha de cana-de-açúcar. In: Congresso Brasileiro das Ciências das Plantas Daninhas, 23., 2002, Gramado. Anais... Gramado: SBCPD, 2002. v. 1, p. 157-157.
- Paul, E.A.; Clark, F.E. *Soil microbiology and biochemistry*. London: Academy Press, 1996. 275p.
- Reddy, K. N.; Locke, M.A.; Wagner, S.C.; Zablotowicz, R.; Gaston, L.A. Smeda, R.J. Chlorimuron ethyl sorption and desorption kinetics in soils and herbicide-desiccated cover crop. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 43, n. 10, p. 2752-2757, 1995. <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00058a038>>. 10 Jul. 2010. doi:10.1021/jf00058a038.
- Reis, M.R.; Silva, A.A.; Costa, M.D.; Guimarães, A.A.; Ferreira, E.A.; Santos, J.B.; Cecon, P.R. Atividade microbiana em solo cultivado com cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas. *Planta Daninha*, v.26, n.2, p. 30-37, 2008. <<http://www.scielo.br/pdf/pd/v26n2/a08v26n2.pdf>>. 22 Set. 2010. doi:10.1590/S0100-83582008000200008.
- Rodrigues, B. N. Influência da cobertura morta no comportamento dos herbicidas imazaquin e clomazone. *Planta Daninha*, v. 11, n. 1-2, p. 21-28, 1993. <<http://www.scielo.br/pdf/pd/v11n1-2/a04v11n1.pdf>>. 17 Set. 2010. doi:10.1590/S0100-83581993000100004.
- Rodrigues, B. N.; Almeida, F. S. Guia de herbicidas. Londrina: SBCPD, 2005. 648 p.
- Roslycky, E.B. Glyphosate and the response of the soil microbiota. *Soil Biology and Biochemistry*, v.14, n.2, p.87-92, 1982. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0038071782900499>>. 10 Jul. 2010. doi:10.1016/0038-0717(82)90049-9.
- Santos, J.B.; Jakelatis, A.; Silva, A.; Vivian, R.; Costa, M.D.; Sila, A.F. Atividade microbiana do solo após aplicação de herbicidas em sistemas de plantio direto e convencional. *Planta Daninha*, v.23, n.4, p. 683-691, 2005. <<http://www.scielo.br/pdf/pd/v23n4/27498.pdf>>. 10 Out. 2010. doi:10.1590/S0100-83582005000400017.
- Silva, A. A.; Ferreira, F.A.; Ferreira, L. R. Herbicidas: classificação e mecanismo de ação. In: Silva, A. A.; Silva, J. F. (Org.). Tópicos em manejo de plantas daninhas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. p. 83-147.
- Silva, F. de A. S.; Azevedo, C. A. V. de. Principal components analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: World Congress on Computers in Agriculture, 7., 2009, Reno-USA. Proceedings... Reno-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009. v.1, p.393-396.
- Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola – SINDAG. Upload. <http://www.sindag.com.br/upload/compimp0105.xls>. 10 Fev. 2007.
- Somerville, L.; Greaves, M.P. Pesticide effects on soil microflora. London: Taylor & Francis, 1987. 240p.
- Stenberg, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science*, v. 49, n.1, p. 1-24, 1999. <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09064719950135669>>. 05 Jul. 2010. doi:10.1080/09064719950135669.
- Thelan, K. D.; Kells, J. J.; Penner, D. Rotational crop response and volatilization with FMC-57020. *Proceedings North Central Weed Control Conference*, v. 41, n. 1, p. 48, 1986.
- Tironi, S.P.; Belo, A.F.; Fialho, C.M.T.; Galon, L.; Ferreira, E.A.; Silva, A. A.; Costa, M.D.; Barbosa, M.H.P. Efeito de herbicidas na atividade microbiana do solo. *Planta Daninha*, v. 27, n. especial, p. 995-1004, 2009. <<http://www.scielo.br/pdf/pd/v27nspe/v27nspea13.pdf>>. 13 Set. 2010. doi:10.1590/S0100-83582009000500013.
- Tuffi Santos, L. D.; Santos, J.B. Ferreira, F.A.; Oliveira, J.A.; Bentivenha, S.; Machado, A.F.L. Exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto e na respiração microbiana do solo. *Planta Daninha*, v. 23, n. 1, p. 143-152, 2005. <<http://www.scielo.br/pdf/pd/v23n1/23938.pdf>>. 12 Out. 2010. doi:10.1590/S0100-83582005000100017.
- Vance, E. D.; Brookes, P. C.; Jenkinson, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 19, n.6, p. 703-707, 1987. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0038071787900526>>. 12 Jul. 2010. doi:10.1016/0038-0717(87)90052-6.
- Velini, E. D. Efeitos da palhada de cana colhida crua sobre a eficiência do Velpar K (hexazinona+diuron). In: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 24., 2004, Londrina - PR. Anais... Londrina: SBCPD, 2004. v.1, p.14.
- Vivian, R.; Reis, M.R.; Jakelaitis, A.; Silva, A.F.; Guimarães, A. A.; Santos, J.B.; Silva, A.A. Persistência de sulfentrazone em Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com cana-de-açúcar. *Planta Daninha*, v. 24, n. 4, p. 741-750, 2006. <<http://www.scielo.br/pdf/pd/v24n4/a15v24n4.pdf>>. 07 Set. 2010. doi:10.1590/S0100-83582006000400015.
- Zar, J.H. *Bioestatistical analysis*. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 663p.